

## Elazığ ve Komşu İllerdeki Koyunlarda *Coxiella burnetii* Enfeksiyonunun Yaygınlığı

Hakan KALENDER

Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü, Elazığ-TÜRKİYE

Geliş Tarihi: 05.11.1999

**Özet :** Bu çalışma, Elazığ ve komşu illerdeki koyunlarda *C. burnetii* enfeksiyonunun yaygınlığını İndirekt Floresan Antikor (IFA) Testi ile ortaya koymak amacıyla yapıldı. Çalışmada yavru atmış koyunlardan alınan 184 serum örneğinin 71 (%38.59)'i ve yavru atmamış koyunlardan alınan 227 serum örneğinin 25 (%11.01)'i pozitif bulundu. Elazığ'da %20, Malatya'da % 20, Bingöl'de % 27.95 ve Muş'ta %27.27 oranında pozitiflik saptandı. Pozitif çıkan örneklerde antikor titreleri 1/80 ile 1/1280 arasında tespit edildi. Sonuç olarak, Elazığ ve komşu illerdeki koyunlarda görülen yavru atma vakalarında Q hummasının da gözönünde bulundurulması gerektiği kanısına varıldı.

**Anahtar Sözcükler:** *Coxiella burnetii*, koyun, İndirekt Floresan Antikor Test.

### The Incidence of *Coxiella burnetii* Infection in Ewes in Elazığ and Neighboring Provinces

**Abstract :** This study was carried out to determine the incidence of *C. burnetii* infection using the Indirect Fluorescent Antibody (IFA) Test in ewes in Elazığ and neighboring provinces. Seropositivity was detected in 38.59 % (71/184) of aborted ewes and in 11.01 % (25/227) of unaborting ewes. The seropositivity rates were 20 % in Elazığ, 20 % in Malatya, 27.95 % in Bingöl and 27.27 % in Muş. Antibody titers ranged from 1/80 to 1/1280. Q fever should be considered an important cause of abortions in ewes in Elazığ and neighboring provinces.

**Key Words:** *C. burnetii*, sheep, Indirect Fluorescent Antibody Test.

### Giriş

Q humması, *C. burnetii* tarafından oluşturulan zoonoz bir enfeksiyondur. Enfeksiyon hayvanlarda yavru atma ve kronik mastitisler dışında belirgin semptomlar göstermeden seyrederek (1-4). Hastalık, hayvanların aksine insanlarda daha belirgin klinik bulgularla kendini göstermektedir. İnsanlardaki en önemli klinik belirtiler, yüksek ateş ve şiddetli baş ağrılarıdır. *C. burnetii* enfeksiyonu sonucu insanlarda endokarditis, perikarditis ve pnömoni görülebilir (3, 5, 6).

*C. burnetii* birçok fiziksel ve kimyasal faktörlere karşı dirençli olduğundan çevrede uzun süre canlı kalabilme yeteneğine sahiptir. Bu özellik hastalığın kontrolünde önemli bir engel oluşturmaktadır (3, 6, 7). Hayvanlar enfeksiyonu kenelerden ve hastalıklı materyalle direkt temas ile alırlar (2, 4, 7, 8). İnsanlar etkenle bulaşık tozların solunum yoluyla alınması ve pastörize edilmemiş kontamine sütün tüketilmesi sonucu hastalığa yakalanır

(3, 6, 9). Ayrıca keneler vasıtasıyla da hastalık insanlara bulaşabilmektedir (2, 10, 11).

Hastalığı klinik olarak teşhis etmek zordur. Hastalık etkeninin izolasyonu güç ve zaman alıcı olduğundan hastalığın teşhisinde serolojik testler önem taşımaktadır (6, 12). Hastalığın serolojik teşhisinde Mikroaglutinasyon (MA), Komplement Fikzasyon (CF), İndirekt Floresan Antikor (IFA) ve Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) testleri kullanılmaktadır (6, 7, 13-15). Birçok çalışmada en duyarlı testlerin IFA ve ELISA olduğu bildirilmiştir (6, 14, 16). Son zamanlarda hastalığın teşhisinde yaygın olmamakla birlikte moleküler teşhis metodu olan Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) tekniğinin kullanıldığı bildirilmektedir (12, 17).

Dünyada ve Türkiye'nin çeşitli bölgelerinde yapılan ve çoğunluğu serolojik olan çalışmalardan elde edilen sonuçlar, hastalığın hayvanlar ve insanlar için oluşturduğu tehlikeyi kantitatif olarak ortaya koymaktadır. Japonya'-

da IFA testi ile yapılan bir çalışmada koyunlarda % 28.1 oranında seropozitiflik saptanmıştır (8). Kıbrıs'ta yapılan bir çalışmada koyun ve keçilerde Q hummasından ileri gelen abortların oldukça yaygın olduğu bildirilmiştir (18). Sudan'da MA testiyle koyunlarda %62.5 oranında seropozitiflik saptanmıştır (19). Kanada'da koyunlarda *C. burnetii* enfeksiyonu sonucu placentitis ve abortusların görüldüğü ve koyun sürülerinde % 23 oranında seropozitiflik saptandığı açıklanmıştır (5).

Türkiye'de hayvanlarda Q hummasının mevcudiyeti ilk defa 1946-1947 yıllarında sütlerden *C. burnetii* nin izole edilmesiyle ortaya konmuştur (20). Bundan sonra yapılan birçok çalışmada hastalığın Türkiye'de yaygınlığı araştırılmıştır. Atun (21) tarafından yapılan bir çalışmada, 974 koyun serumunda % 2.8 oranında seropozitiflik saptanmıştır. Çukurova bölgesinde yapılan bir çalışmada, yavru atmış koyun ve keçilere ait kan serumlarında % 78.6 oranında seropozitiflik tespit edilmiştir (15). Erzurum, Kars ve Ağrı illerinde yapılan bir çalışmada koyun serumlarının % 22.1'inde Q humması antikoruna saptanmıştır (4).

Bu çalışma Elazığ ve komşu illerdeki yavru atmış ve yavru atmamış koyunlarda *C. burnetii* enfeksiyonunun yaygınlığını ortaya koymak amacıyla yapılmıştır.

## Materyal ve Metot

**Kan Serumları:** Çalışmada, Elazığ, Malatya, Bingöl ve Muş illerindeki yavru atan 184 ve yavru atmamış 227 koyundan alınan kan serumları kullanıldı. Kan serumları test edilinceye kadar -20°C'de saklandı.

**Pozitif ve Negatif Kontrol Serumları:** Q humması pozitif ve negatif kontrol serumları Weybridge Central Veterinary Laboratory'de Dr.G.Paiba'dan temin edildi.

**IFA Testi:** Kan serumları Bio Merieux firmasından sağlanan *Coxiella burnetii* immunofloresan kiti ile incelendi. Test edilecek serumlar, pozitif ve negatif kontrol serumlar kitin içerisinde belirtilen metoda göre 1/80 oranında PBS içerisinde sulandırıldı. Antijen kaplı lamaların her kuyucuğuna serum dilüsyonundan 10 µl ilave edildi. Bir kuyucuğa konjugat kontrol olarak yalnızca PBS konuldu. Lamalar nemli ortamda 37°C' de 30 dakika bekletildi. Bu süre sonunda PBS-tween içerisinde 2 kez 5'er dakika yıkandıktan sonra distile suya daldırıldı ve kurutuldu. Anti-koyun IgG FITC konjugatı 1/160 oranında 1/10.000'lik evans mavisinde sulandırıldı. Her

kuyucuğa incelenecek serum örneğine uygun sulandırılmış konjugattan 10 µl ilave edildi. Lamalar tekrar nemli ortamda 37°C'de 30 dakika bekletildi. Bu süre sonunda PBS-tween içerisinde 2 kez 5'er dakika yıkandıktan sonra distile suya daldırıldı ve kurutuldu. Lamalar Olympus BHF model floresan mikroskopta incelendi. Serumların 1/80 dilüsyonunda floresan görülmesi pozitif olarak değerlendirildi. Antikor titrelerini saptamak amacıyla pozitif saptanan serum örneklerinin 1/80'den 1/1280'e kadar katlı sulandırmaları yapıldı. Pozitif görüntünün saptandığı en son serum sulandırması antikor titresi olarak kabul edildi.

Sonuçların istatistiksel değerlendirilmesinde Khi kare ( $X^2$ ) testi uygulandı.

## Bulgular

Kan serumlarının IFA sonuçları Tablo 1'de verilmiştir. Tabloda görüldüğü gibi yavru atmış koyunlara ait 184 serum örneğinin 71(%38.59)inde ve yavru atmamış koyunlara ait 227 serum örneğinin 25(%11.01)'inde seropozitiflik tesbit edildi. Yavru atmış ve yavru atmamış koyunlara göre pozitiflik oranları arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemli bulundu ( $p<0.001$ ).

Tablo 1. Kan Serumlarının IFA Sonuçları.

Serum Sayısı	Yavru Atmış Koyunlar		Yavru Atmamış Koyunlar	
	n	%	Serum Sayısı	Pozitif
184	71	38.59	227	25
				11.01

Elazığ'da % 20, Malatya'da % 20, Bingöl'de % 27.95 ve Muş'ta % 27.27 oranında seropozitiflik saptandı (Tablo 2). İllere göre pozitiflik oranları arasındaki farklılık önemli bulunmadı ( $P>0.05$ ). Pozitif tespit edilen 96

Tablo 2. İllere Göre Seropozitiflik Oranlarının Dağılımı.

Yer	Serum Sayısı	Pozitif	
		n	%
Elazığ	130	26	20
Malatya	100	20	20
Bingöl	93	26	27.95
Muş	88	24	27.27
Toplam	411	96	23.35

serum örneğinin 66 (%68.75)'sında 1/80, 12 (%12.5)'sinde 1/160, 7 (%7.29)'sinde 1/320, 8 (%8.33)'inde 1/640 ve 3 (% 3.12)'ünde 1/1280 antikor titresi saptandı (Tablo 3).

Tablo 3. Pozitif Serumların Titrelere Göre Dağılımı.

Pozitif Serum Sayısı	Titreler									
	1:80		1:160		1:320		1:640		1:1280	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
96	66	68.75	12	12.5	7	7.29	8	8.33	3	3.12

### Tartışma ve Sonuç

Bu çalışma, Elazığ ve komşu illerdeki koyunlarda *C. burnetii* enfeksiyonunun yaygınlığını IFA ile ortaya koymak amacıyla yapılmıştır. Yavru atmış koyunlarda % 38.59, yavru atmamış koyunlarda % 11,01 oranında seropozitiflik tespit edilmiştir. Seropozitiflik oranları arasındaki bu farklılık önemli bulunmuştur ( $P<0.001$ ). Bu bulgular zoonoz bir enfeksiyon olan Q hummasının koyunlarda yaygın olduğunu ve *C. burnetii* nin koyunlarda görülen abort vakalarından sorumlu olabileceğini göstermektedir.

Koyunlarda *C. burnetii* enfeksiyonuna bağlı olarak abortların görüldüğü birçok araştırmacı tarafından rapor edilmiştir (2,4, 5, 18, 22, 23). Yapılan bir çalışmada yavru atmış koyunlarda CF testi ile % 40 oranında pozitiflik bulunmuştur (24). Palmer ve ark. (5), *C. burnetii* enfeksiyonu sonucu koyun ve keçi sürülerinde yavru atma oranının % 5-20 olduğunu bildirmişlerdir. Crowther ve Spicer (18), CF testi ile yavru atmış koyun ve keçilere ait serumlarda % 72, sağlıklı koyun ve keçilere ait serumlarda % 44 oranında pozitiflik saptamışlardır.

Türkiye'de koyunlarda yavru atma olguları yaygın olarak görülmektedir. Her yıl yavru atma olgularının büyük bir kısmının brusellozisten kaynaklandığı bildirilmiştir (25-27). *Campylobacter*, *Salmonella*, *Chlamydia* ve *Leptospiralar* diğer önemli bakteriyel abortus etkenleridir. Abort vakalarının büyük bir kısmında etken saptanamamaktadır. Abort yapmış hayvanların Q fever yönünden muayenesi genellikle gözardı edilmektedir. Türkiye'de yapılan bir çalışmada sağlıklı sığırlarda % 11.6 ve sağlıklı koyunlarda % 13 oranında seropozitiflik tespit edilmesine karşın, abort yapmış sığırlarda % 44.4, abort yapmış koyunlarda ise % 78.6 oranında seropozitiflik tespit edilmiştir (15).

Serolojik teşhiste *C. burnetii* faz I ve faz II antijenlerine karşı oluşan antikorlar tespit edilebilir. *C. burnetii* ye karşı oluşan antikorların yüksek spesifiteye sahip olması serolojik testlerde kros reaksiyonların görülmesini önlemektedir. Hastalığın teşhisinde CF testi yaygın olarak kullanılmıştır. Ancak bu testin sensitivitesinin düşük olduğu ve pozitif serumlarda antikomplementer özellikten dolayı yanlış sonuçların alınacağı bildirilmektedir (28). Son zamanlarda serolojik teşhiste IFA ve ELISA testleri kullanılmaktadır (6, 8, 13, 14). IFA duyarlı, çabuk, güvenilir ve uluslararası standardize edilmiş bir testtir (28). Yapılan bir çalışmada ELISA, IFA ve CF testlerinin duyarlılık oranları sırasıyla % 94, % 91 ve % 78 oranında saptanmıştır (29). Diğer bir çalışmada CF ve IFA testlerinin mukayesesinde, IFA daha duyarlı bulunmuştur (30). Serolojik testler hastalığın teşhisinde yaygın olarak kullanılmakla birlikte bazı dezavantajlara sahiptir. Antikorlar enfeksiyonun erken devresinde tespit edilememektedir. Tek bir serum örneği ile yeni ve geçmişte olan bir enfeksiyonu ayırt etmek güçtür. Çünkü organizma kandan çekildikten sonra antikorlar persiste kalabilir (12).

*C. burnetii* antikorları enfeksiyondan 2 hafta sonra tespit edilebilir ve antikor konsantrasyonu 1-2 ay içerisinde maksimum düzeye ulaşır ve daha sonra hızla düşer (3). Fishbein ve Raoult (31), 1/200 ve üzerindeki IgG titrelerini son zamanlardaki enfeksiyonun, 1/25 ile 1/200 arasındaki titreleri önceki enfeksiyonun göstergesi olarak kabul etmişlerdir. Yapılan diğer bir çalışmada IFA testinde 1/100 ve üzerindeki titreler pozitif olarak kabul edilmiştir (28). Bu çalışmada ticari IFA kiti kullanılmış ve 1/80 ve üzerindeki titreler pozitif olarak değerlendirilmiştir. Pozitif çıkan örneklerin %68.75'inde 1/80, %12.5'inde 1/160, %7.29'unda 1/320, %8.33'ünde 1/640 ve % 3.12'sinde 1/1280 oranında titre saptanmıştır.

Hayvanlar belirgin klinik bulgular göstermediğinden hastalığın kontrolü güçtür. Çiftçiler hastalığın oluşturduğu ekonomik kayıplar ve hastalık hakkında yeterli bilgiye sahip olmadıklarından hastalığın kontrolünde isteksiz davranmaktadırlar. Etkenin çevrede uzun süre canlı kalması hastalığın kontrolünü güçleştirmektedir. Bazı seronegatif hayvanların etkeni yaymaları nedeniyle sürüde enfeksiyonu eradike etmek zor ve masraflıdır (32). Aşılamanın enfekte hayvanlardan etkenin yayılmasını azalttığı ancak mikroorganizmayı tamamen elimine etmediği bildirilmiştir (3, 33).

Sonuç olarak, Q humması Elaziğ ve komşu illerde insan ve hayvan sağlığı için önem taşımaktadır. Hayvanlarla yakın ilişkide olan insanlar bu enfeksiyona karşı dikkatli olmalıdırlar. İnsanlar için esas enfeksiyon kaynağı hayvanlar olduğundan çiftçiler hastalık hakkında

eğitilmelidirler. Koyunlarda görülen yavru atma vakalarında Q humması üzerinde de durulmalıdır. Hastalığın epidemiyolojisini daha iyi belirlemek ve ekonomik önemini ortaya koymak amacıyla geniş kapsamlı çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

## Kaynaklar

1. Aitken, I.D.: Clinical Aspects and Prevention of Q fever in Animals. Eur. J. Epidemiol. 1989; 5: 420-424.
2. Arda, M., Minbay, A., Lelolu, N., Aydın, N. ve Akay, Ö.: Özel Mikrobiyoloji. Epidemiyoloji, Bakteriye ve Mikotik Enfeksiyonlar. Atatürk Üniversitesi Yayınları. No: 741. A.Ü. Basımevi. Erzurum. 1992.
3. Behymer, D. and Riemann, H.P.: Coxiella burnetii Infection (Q fever). J. Am.Vet.Med. Association. 1989; 194, (6): 764-767.
4. Leloğlu, N.: Erzurum, Kars ve Ağrı İllerinde Q humması Üzerinde Çalışmalar. A.Ü. Ziraat Fak. Z.Derg. 1977; 8, (1): 113-131.
5. Palmer, N.C., Kierstead, M., Key, D.W., Williams, J.C., Peacock, M.G. and Vellend, H.: Placentitis and Abortion in Goat and Sheep in Ontario Caused by Coxiella burnetii. Can. Vet. J. 1983; 24: 60-61.
6. Reimer, L.G.: Q Fever. Clin.Microbiol.Rev. 1993; 6, (3): 193-198.
7. Little, T.W.A.: Q Fever- an Enigma. Br. Vet.J. 1983; 139: 277-283.
8. Htwe, K.K., Amano, K., Sugiyama, Y., Yagami, K., Minamota, N., Hashimoto, A., Yamaguchi, T., Fukushi, H. and Hirai, K.: Seroepidemiology of Coxiella burnetii in Domestic and Companion Animals in Japan. Vet.Rec. 1992; 131: 490.
9. Clark, W.H., Lennette, E.H., Railsback, O.C. and Romer, M.S.: Q Fever in California. VII Clinical Features in One Hundred Eighty Cases. Arch. Int.Med. 1951; 88: 155.
10. Stoenner, H.G. : Q Fever. CRC Handbook Series in Zoonoses, Section A: Bacterial, Rickettsial and Mycotic Disease, Volume II. 1980.
11. Waldhalm, D.G., Stoenner, H. G., Simmons, R. E. and Thomas, L. A.: Abortion Associated with Coxiella burnetii Infection in Dairy Goats. J. Am. Vet. Med. Association. 1978; 173: 1580-1581.
12. Zhang, G.Ç., Savnguyen, H.T., Ogawa, M., Hotta, A., Yamaguchi, T., Kim, H.J., Fukushi, H. and Hirai, K.: Clinical Evaluation of a New PCR Assay for Detection of Coxiella burnetii in Human Serum Samples. J. Clin. Microbiol. 1998; 36, (1): 77-80.
13. Lang, G.H.: Serosurvey of Coxiella burnetii Infection in Dairy Goat Herds in Ontario. A Comparison of Two Methods of Enzyme-Linked Immunosorbent Assay. Can. J. Vet. Res. 1988; 52:37-41.
14. Özgür, N.Y., Hasöksüz, M., Yılmaz, H., İkiz, S. ve İlğaz, A.: İnfertilite Sorunu Olan Dişi Sığırlarda ve İnsanlarda Coxiella Burnetii Antikorlarının ELISA Testi ile Belirlenmesi ve Seroprevalansın Saptanması. Pendik Vet. Mikrobiyol. Derg. 1997; 28, (2): 207-218.
15. Özyer, M., Miriolu, M. ve Köksal, F. : Çukurova Bölgesinde Yaşayan İnsan ve Hayvanlarda Q Fever İnfeksiyonu İnsidansının Komplement Fiksasyon Testi ile Araştırılması. Pendik Hayv. Hast. Merk. Araşt. Enst. Derg. 1990; 21, (2): 28-38.
16. Houwers,D.J. and Richardus, J.H. : Infections with Coxiella burnetii in Man and Animals in The Netherlands. Zentralbl Bacteriol. Hyg. A. 1987; 267: 30-36.
17. Zhang, G.Ç., Hotta, A., Mizutani, M., Ho, T., Yamaguchi, T., Fukushi, H. and Hirai, K.: Direct Identification of Coxiella burnetii Plasmids in Human Sera by Nested PCR. J. Clin. Microbiol. 1998; 36, (8): 2210- 2213.
18. Crowther, R.W. and Spicer, A.J.: Abortion in Sheep and Goats in Cyprus Caused by Coxiella burnetii. Vet. Rec. 1976;. 99: 29-30.
19. Reinthaler, F.F., Mascher, F., Sixl, W. and Arbesser, C.H.: Incidence of Q Fever Among Cattle, Sheep and Goats in The Upper Nile Province in Southern Sudan. Vet.Rec. 1988; 122: 137.
20. Payzın, S.: Türkiye'de Q humması Epidemiyolojisi. Türk Hyg.Tec. Biol. Derg. 1949; 2, (9): 101-110.
21. Atun, H.: Türkiye'de Serolojik Yolla Hayvanlarda Q Fever Aranması. Türk Vet. Hek. Der. Derg. 1953; 23, (78-79): 613-620.
22. Raju, N.R., Collings, D.F. and Saville, P.H.: Abortion in Black Belly Barbados Sheep in Fiji Caused by Coxiella burnetii. Aust.Vet. J. 1988; 65, (7): 225-226.
23. Zeman, D.H., Kirkbride, C.A., Leslie-Steen, P. and Duimstra, J.R.: Ovine Abortions Due to Coxiella burnetii Infection. J. Vet. Diagn. Invest. 1989; 1: 178.
24. Polydorou, K.: Ç Fever in Cyprus: A Short Review. 1981; 137:470-477.
25. Muz, A., Özer., Eröksüz,H., Ertaş,H.B., Öngör, H., Gülcü, H.B., Dabak, M., Başbuğ, O. ve Kalender, H.: Elaziğ ve Çevresinde Koyun ve Keçilerde Abortus Olgularının Bakteriyojik, Serolojik ve Patolojik olarak İncelenmesi. Tr. J. Vet. Anim. Sci. 1999; 23, (1): 177-188.
26. Arda, M., Bisping, W., Aydın, N., İstanbulluolu, E., Akay, Ö., İzgür, M., Diker, S. ve Karaer, Z.: Orta Anadolu Bölgesi Koyunlarında Abortus Olgularının Etiyolojisi ve Serolojisi Üzerinde Bir Çalışma. A.Ü.Vet.Fak.Derg. 1987; 34, (2): 195-206.
27. Karaman, Z., Güler, E. Ve Küçükayan, U.: Ankara Bölgesinde Toplanan ve Değişik Yörelere Gelen Atık Yapan Koyun Kan Serumları ve Materyallerinin Serolojik ve Mikrobiyolojik Yoklaması Üzerinde Çalışmalar.Etilik Vet. Mikrobiyol. Derg. 1993; 7: 60-69.

28. Cowley, R., Fernandez, F., Freemantle, W. and Rutter, D.: Enzyme Immunoassay for Q Fever: Comparison with Complement Fixation and Immunofluorescence Tests and Dot Immunoblotting. *J. Clin. Microbiol.* 1992; 30, (9): 2451-2455.
29. Peter, O., Dupuis, G., Peacock, G. and Burgdorfer, W.: Comparison of Enzyme Linked Immunosorbent Assay and Complement Fixation and Indirect Fluorescent Antibody Tests for Detection of *Coxiella burnetii* Antibody. *J. Clin. Microbiol.* 1987; 25: 1063-1067.
30. Dupuis, G., Peter, O., Peacock, M., Burgdorfer, W. and Haller, E.: Immunoglobulin Responses in Acute Q Fever. *J. Clin. Microbiol.* 1985; 22: 484-487.
31. Fishbein, B.D. and Raoult, D.: A Cluster of *Coxiella burnetii* Infections Associated with Exposure to Vaccinated Goats and Their Unpasteurized Dairy Products. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 1992; 47, (1): 35-40.
32. Hall, C.J., Richmond, S.J. and Caul, E.O.: Laboratory Outbreak of Q Fever Acquired from Sheep. *Lancet* i: 1982; 1004-1006.
33. Biberstein, E.L., Riemann, H.P., Franti, C.E., Behymer, D.E., Ruppner, R., Bushnell, R. and Crenshaw, G.: Vaccination of Dairy Cattle Against Q Fever (*Coxiella burnetii*): Results of Field Trials. *Am. J. Vet. Res.* 1977; 38: 189-193.